GAMA GT

MÉTODO:
SZASZ Modificado (IFCC).

FINALIDADE:
Kit de reagentes para a determinação quantitativa da γ-glutamiltransferase no soro ou plasma heparinizado em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A γ-glutamiltransferase (GGT), também chamada de gama-glutamil transpeptidase, é uma enzima que catalisa a transferência de grupos γ-glutamil de moléculas como a glutationa para aminoácidos, peptídeos ou água. Sua maior produção é no sistema hepatobiliar, portanto ensaios de GGT são utilizados no diagnóstico e monitoramento de doenças hepatobiliares. A sua sensibilidade em detectar icterícia obstrutiva, colangite ou coleciste é superior ao teste de fosfatase alcalina. O uso prolongado de drogas como fenobarbital e fenitoína, assim como o álcool, aumenta os níveis de GGT devido aos efeitos hepatotóxicos, assim o teste de GGT é também um ensaio sensível para alcoolismo.

FUNDAMENTO:
Essa é uma modificação do método criado por Szász utilizando um substrato mais solúvel em água, de acordo com IFCC. A GGT transfere o grupo γ-glutamil do substrato L-γ-glutamil-3-carbóxi-4-nitroanilida para o peptídeo glicilglicina, formando L-γ-glutamil-glicilglicina e 5-amino-2-nitrobenzoato. A quantidade de 5-amino-2-nitrobenzoato formada é proporcional à atividade de GGT presente na amostra.

$$\underset{Glicilglicina}{L\text{-}\gamma\text{-}glutamil\text{-}3\text{-}carbóxi\text{-}4\text{-}nitroanilida} + \xrightarrow{GGT} \underset{5\text{-}amino\text{-}2\text{-}nitrobenzoato}{L\text{-}\gamma\text{-}glutamil\text{-}glicilglicina} +$$

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Tampão Tris	≥100	mmol/L
Glicilglicina	≥120	mmol/L
Surfactantes e conservantes	<0,2	g/L
R2:		
L-γ-glutamil-3-carbóxi-4-nitroanilida	≥2,9	mmol/L
Surfactantes e conservantes	≥0,5	g/L

MODO DE USO:
Os reagentes estão prontos para uso e não dependem de preparo.

Opcionalmente, os reagentes podem ser utilizados como Reagente de Trabalho. Sendo que, nesse caso, a proporção da mistura é de 4 partes de Reagente 1 com 1 parte do Reagente 2. Homogeneizar antes do uso.

ESTABILIDADE:
R1 e R2 são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados de 2 a 8 °C.
O Reagente de trabalho é estável por 28 dias entre 2 e 8 °C.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 62 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:
- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:
- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 30 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:
- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis.
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (heparina) livres de hemólise.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A estabilidade da γ-glutamiltransferase na amostra é de 7 dias em 4 a 8 °C ou 1 ano a -20 °C.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Ácido ascórbico	60 mg/dL
Bilirrubina	30 mg/dL
Hemoglobina	150 mg/dL
Triglicérides	2000 mg/dL

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.
B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 405 nm (400 a 420 nm)
Temperatura: 37 ±0,5 °C
Tipo de reação: Cinética crescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C-Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	**Tubos ou cubetas**		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
R1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Água	100 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	100 µL	---
Amostra	---	---	100 µL
Homogeneizar bem e incubar por 1 minuto, então adicionar:			
R2	250 µL	250 µL	250 µL

2- Homogeneizar bem, incubar a 37 °C
3- Ler absorbância inicial a 405 nm (400 a 420 nm) após 1 minuto acionando o cronômetro simultaneamente.
4- Ler novamente a absorbância após 1, 2 e 3 minutos, respeitando o mesmo comprimento de onda utilizado na absorbância inicial

D-Cálculo com padrão:
Para avaliar a linearidade da reação, observar se as diferenças de absorbância a cada minuto são equivalentes. Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto (ΔAbs/min):

$$\Delta Abs/min = \frac{(Abs1 - Abs0) + (Abs2 - Abs1) + (Abs3 - Abs2)}{3}$$

$$\text{Atividade da GGT (U/L)} = \frac{\Delta Abs/min_{Amostra}}{\Delta Abs/min_{Padrão}} \times \text{Concentração do Calibrador/Padrão}$$

Exemplo:

Padrão:	Amostra:
A0 = 0,952	A0 = 0,863
A1 = 0,992	A1 = 0,908
A2 = 1,059	A2 = 0,954
A3 = 1,116	A3 = 1,001

$$\Delta Abs/min_{Padrão} = \frac{(0,992 - 0,952) + (1,059 - 0,992) + (1,116 - 1,059)}{3} = 0,055$$

$$\Delta Abs/min_{Amostra} = \frac{(0,908 - 0,863) + (0,954 - 0,908) + (1,001 - 0,954)}{3} = 0,046$$

Padrão = 100 U/L

$$\text{Atividade da GGT (U/L)} = \frac{0,046}{0,055} \times 100 = \textbf{84 U/L}$$

E-Cálculo com fator:
O fator calculado baseado no coeficiente de extinção molar e pode ser aplicado:

	Sem reagente de trabalho	**Com reagente de trabalho**
GGT, 37 °C	1369 × ΔAbs/min	1158 × ΔAbs/min

VALORES DE REFERÊNCIA:

	Masculino		**Feminino**	
0 – 6 meses	12 – 122 U/L	(0,2 – 2,2 µkat/L)	15 – 132 U/L	(0,3 – 2,1 µkat/L)

GAMA GT

6 – 12 meses	1 – 39 U/L	(0,02 – 0,7 µkat/L)	1 – 39 U/L	(0,02 – 0,7 µkat/L)
1 – 12 anos	3 – 22 U/L	(0,05 – 0,4 µkat/L)	4 – 22 U/L	(0,07 – 0,4 µkat/L)
13 – 18 anos	2 – 42 U'/L	(0,03 – 0,7 µkat/L)	4 – 24 U/L	(0,07 – 0,4 µkat/L)
Adultos	7 – 58 U/L	(0,12 – 1,0 µkat/L)	5 – 39 U/L	(0,09 – 0,7 µkat/L)

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 U/L × 0,0167 = µkat/L

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
A reação é linear até a concentração de 700 U/L (12 µkat/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
O limite inferior de detecção é 3,0 U/L (0,05 µkat/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 25*	Média (U/L)	Desvio padrão (U/L)	CV%
Amostra 1	18,8	0,412	2,19
Amostra 2	48,6	0,587	1,21
Amostra 3	151,2	1,504	0,99

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 25*	Média (U/L)	Desvio padrão (U/L)	CV%
Amostra 1	18,9	0,277	1,46
Amostra 2	49,0	0,909	1,85
Amostra 3	150,2	1,875	1,25

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Foram realizados testes com 79 amostras comparando-se o reagente GGT (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 0{,}996x + 1{,}065$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9988

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEÚDO	
			R1	R2
GGT (Universal)	VYT010307179EN	100 mL	4 x 20 mL	2 x 10 mL
GGT (BM SERIES I)	VYT010308793EN	100 mL	2 x 40 mL	2 x 10 mL
GGT (BM SERIES III)	VYT010307457EN	150 mL	2 x 60 mL	2 x 15 mL

ANVISA: 81692610093

BIBLIOGRAFIA:

1. Guder WG et al. List of Analytes Preanalytical Variables. In: Samples: From the Patient to the Laboratory, 2nd Ed. 2003.
2. Kaplan, LA, Pesce, AJ. Methods in Clinical Chemistry, St. Louis: The C.V. Mosby Co., 1122, 1987.
3. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
4. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
5. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
6. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
7. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997
8. IFCC. Clin Chem Lab Med. 40:734-38, 2002.
9. Zawta B. Klein G. Bablock W. Klin Lab. 40:33-42, 1994.
10. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
11. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:

Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:


Data de Fabricação


Data de Validade


Limite de Temperatura



Código do Produto


Consultar Instruções de Uso



Número do Lote



Produto para Diagnóstico In Vitro